

**PENGARUH MATRIKS PENDUKUNG KITOSAN-Ca  
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PAPAIN IMMOBIL**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Jurusan  
Kimia Fakultas Teknik**

**Oleh:**

**SULASTRI HANDAYANI**

**D 500 130 068**

**PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNIK  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
2017**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**PENGARUH MATRIKS PENDUKUNG KITOSAN-Ca  
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PAPAIN IMMOBIL**

**PUBLIKASI ILMIAH**

**Oleh:**

**SULASTRI HANDAYANI**

**D 500 130 068**

**Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:**

**Dosen Pembimbing**



**Hamid Abdillah, S.T., M.T.**

**NIK.894**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**PENGARUH MATRIKS PENDUKUNG KITOSAN-Ca  
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PAPAIN IMMOBIL**

**OLEH**

**SULASTRI HANDAYANI**

**D 500 130 068**

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji**

**Fakultas Teknik**

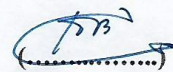
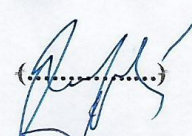

**Universitas Muhammadiyah Surakarta**

**Pada hari Rabu, 21 Desember 2016**

**dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Dewan Penguji:**

- 1. Hamid Abdillah, S.T., M.T**  
**(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Dr. Ir. AM Fuadi, M.T**  
**(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Rois Fatoni, S.T., M.Sc, Ph.D**  
**(Anggota II Dewan Penguji)**

  
.....  
  
.....  
  
.....

**Dekan,**



**Ir. Sri Sunarjono, M.T. Ph.D.**

**NIK. 682**

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 10 November 2017

Penulis



SULASTRI HANDAYANI

D500130068

# **PENGARUH MATRIKS PENDUKUNG KITOSAN-Ca TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PAPAIN IMMOBIL**

## **Abstrak**

Papain adalah enzim protease yang terkandung dalam papaya. Papain diimmobilisasi pada kitosan menggunakan metode *cross linking* dengan matriks kalsium. Papain immobil yang telah diimmobilisasi dengan menggunakan matriks Ca, selanjutnya aktivitasnya diuji dan dibandingkan dengan *free* papain. Variabel yang digunakan adalah pH dan suhu. Dari hasil uji aktivitas papain optimal pada pH 8 dan suhu optimal pada 60°C. sementara aktivitas *free* papain pada pH 8 dan suhu optimal pada 50°C Papain immobil dapat digunakan 2 kali dan *free* papain hanya sekali.

Kata Kunci : aktivitas enzim, enzim, immobilisasi, , matriks kitosan CaCl<sub>2</sub>, papain

## **Abstracts**

Papain is a protease enzyme contained in papaya latex. Papain was immobilized on chitosan by using cross-linking method with calcium matrix. Immobile papain that comes from papain immobilization used chitosan-Ca matrix, its activity is tested to be compared with the free papain. Variable that use is pH and temperature. The result of the study shows an optimum activity of immobile papain at pH 8 and optimum temperature at 60°C. While the activity of free papain at pH 8 and optimum temperature at 50°C, the immobile papain can be used for 2 times and free papain just once time.

Keywords : chitosan-Ca matrix, enzyme, enzyme activity, immobilization, papain

## **1. PENDAHULUAN**

Enzim merupakan polimer biologis yang mengatalisis reaksi kimia yang memungkinkan berlangsungnya kehidupan seperti yang kita kenal. Seperti semua katalisis lain, enzim tidak berubah bentuk secara permanen atau dikonsumsi sebagai konsekuensi dari keikutsertaannya dalam reaksi yang bersangkutan (Murray, Daryl & Victor, 2009).

Fungsi suatu enzim ialah sebagai katalis untuk proses biokimia yang terjadi dalam sel maupun diluar sel. Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10<sup>8</sup> sampai 10<sup>11</sup> kali lebih cepat daripada apabila reaksi tersebut tanpa katalis. Jadi enzim berfungsi sebagai katalis yang sangat efisien, disamping itu mempunyai derajat kekhasan yang tinggi. Seperti juga katalis lainnya, maka enzim dapat menurunkan energi aktivasi suatu reaksi kimia (Poedjiadi & Supriyanti, 2009).

Pada industri yang menggunakan enzim, enzim yang sering digunakan adalah kelompok protease, dimana salah satunya adalah papain. Papain adalah enzim yang diperoleh dari getah papaya. Papain dapat menghidrolisa ikatan peptida pada residu asam  $\alpha$ -amino seperti tirosin, lisin, glutamin, histidin dan glisin. Papain merupakan protease sulfhidril, yang mempunyai residu sulfhidril (SH) pada situs aktifnya (Cahyaningrum & Agustini, 2007).

Sejalan dengan perkembangan bioteknologi industri telah memacu perkembangan rekayasa enzim dalam pemanfaatan enzim pada skala industri. Penggunaan enzim secara konvensional kurang menguntungkan dan tidak efisien karena setiap pemakaian ataupun analisis harus menggunakan enzim baru. Untuk mengatasi kelemahan ini dikembangkan rekayasa enzim dengan teknik imobilisasi (Sebayang, 2006).

Imobilisasi enzim adalah enzim secara fisik ditempatkan pada suatu tempat atau ruang tertentu sehingga aktivitas katalitiknya tetap ada dan dapat digunakan berulang kali (Cahyaningrum & Agustini, 2007).

Metode pada imobilisasi enzim dapat dilakukan dengan beberapa metode. Namun, pada penelitian yang akan dilakukan menggunakan metode *cross-linked* dikarenakan metode ini memiliki beberapa keuntungan seperti biaya yang lebih murah, proses yang sederhana dan bahan mudah ditemukan (Silva, Rosa, Flavia, Carvalho, & Oliva-neto, 2015).

Kitosan atau  $\beta(1,4)$  2-amino-2-deoxy-D-glucose adalah sebuah *hydrophilic biopolymer* merupakan hasil hidrolisis kelompok aminoasetil dari kitin. Sebuah polisakarida ditemukan pada berbagai *crustacea*, serangga dan jamur, sehingga dialam secara mudah dijumpai serta berlimpah. Saat ini, kitosan menarik perhatian karena sebuah polimer baru yang tidak beracun, mempunyai karakteristik seperti *biocompatibility and biodegradability* (Dini, Alexandridou, & Kiparissides, 2003).

Kalsium adalah sebuah elemen kimia dengan Ca. kalsium merupakan logam alkali tanah dan merupakan elemen terabaikan kelima terbanyak di bumi. Kalsium memiliki kegunaan untuk kehidupan manusia seperti proses metabolisme tubuh, penghubung saraf dan lain-lain.

Selain untuk kehidupan manusia kalsium juga memiliki kegunaan dalam bereaksi dengan enzim. Disini kami ingin meneliti bagaimana pengaruh kalsium yang direaksikan dengan kitosan terhadap proses imobilisasi enzim papain.

## **2. METODE**

Pada penelitian yang akan dilakukan menggunakan metode *cross-linked* dikarenakan metode ini memiliki beberapa keuntungan seperti biaya yang lebih murah, proses yang sederhana dan bahan mudah ditemukan. Pada penelitian ini *crosslinked agent* yang digunakan adalah Ca(II). Proses imobilisasi menggunakan matriks kitosan dengan *crosslinked agent* Ca(II) diharapkan menghasilkan ikatan yang tidak terlalu kovalen, sehingga penurunan aktivitas papain karena proses imobilisasi tidak terlalu besar.

### **2.1 Alat yang digunakan dalam penelitian:**

- a. Cawan Porselen

- b. Corong kaca
- c. Erlenmeyer
- d. Gelas beker
- e. Labu ukur
- f. Pengaduk kaca
- g. pH meter
- h. Pipet tetes
- i. Pipet ukur
- j. Pipet volume
- k. Shaker
- l. Sentrifuge
- m. Spektrofotometer UV-Vis
- n. Tabung reaksi
- o. Tabung sentrifuge
- p. Timbangan analitik

## **2.2 Bahan yang digunakan dalam penelitian:**

- a. Akuades
- b. Kitosan
- c. Tirosin
- d. Material Kimia
  - Reagen untuk immobilisasi papain:  $\text{CaCl}_2$
  - Reagen untuk uji aktivitas papain :  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , Kasein, Buffer Posphat, TCA (Trikloroasetat), dan Folin Ciaocalteou.

## **2.3 Tahapan-tahapan penelitian:**

### **2.3.1 Persiapan Bahan Baku**

Kitosan diperoleh dari cangkang udang yang diperoleh dari proses faktoris di Yogyakarta. Enzim papain diperoleh dari perusahaan di daerah Yogyakarta.

### **2.3.2 Immobilisasi Papain**

Sebanyak 100mg matriks kitosan-Ca diinteraksikan dengan 5 mL larutan papain 20mg/mL. Larutan papain dibuat pada pH 8. Waktu immobilisasi enzim adalah 6 jam. Setelah



interaksi selesai, sampel dimasukkan kedalam sentrifuge kemudian diatur 3000 rpm selama 10 menit.

### 2.3.3 Uji Aktivitas Papain

Sebanyak 2.5 mL buffer posphat dengan variasi pH 5-8 ditambah dengan 0.5 mL kasein dimasukkan dalam tabung sentrifuge. Pada tabung lainnya dimasukkan enzim papain 0.25 mL. keduanya di pre-inkubasi pada 55°C selama 10 menit. Setelah pre-inkubasi, enzim papain dimasukkan pada tabung yang berisi buffer dan kasein. Kemudian diinkubasi pada 55°C selama 10 menit. Setelah inkubasi, reaksi dihentikan dengan 1 mL TCA 10%, dinginkan selama 10 menit, dan setelah itu masukkan pada alat sentrifuge pada 3000 rpm selama 10 menit.

Setelah itu menganalisa filtrat, dengan cara 2 mL filtrat ditambah dengan 4 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ditambah 1 mL reagen Folin, diamkan 10 menit, kemudian analisis dengan Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 650 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan nilai absorbansi tirosin sebagai standar.

### 2.3.4 Uji *Reusability* Papain Immobil

Uji *reusability* pada reaksi enzimatik menunjukkan performa dari papain immobil, karena papain bebas hanya mampu digunakan sekali saja.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim papain immobil yang sebelumnya telah diimmobilisasi dengan matriks kitosan-Ca. Kitosan diperoleh dari toko bahan kimia yang berlokasi di daerah Yogyakarta, dan untuk enzim papain diperoleh dari Surabaya. Immobilisasi enzim menggunakan metode *cross linking* dikarenakan memiliki keuntungan seperti biaya murah, sederhana dan bahan yang mudah ditemukan. Pada penelitian ini *crosslinked agent* yang digunakan adalah Ca(II). Proses imobilisasi menggunakan matriks kitosan dengan *crosslinked agent* Ca(II) diharapkan menghasilkan ikatan yang tidak terlalu kovalen, sehingga penurunan aktivitas papain karena proses imobilisasi tidak terlalu besar. Variabel pada penelitian ini adalah pH dan suhu. Berikut ini adalah hasil dan pembahasan analisa penelitian:



### 3.1 Hasil

Tabel 1 Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain

Ph	Aktivitas papain murni (U/mL)	Aktivitas papain immobil (U/mL)
5	0,3515	1,0196
6	0,3539	1,0546
7	0,3469	0,9824
8	0,3585	1,0639

Tabel 2 Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim papain

Suhu	Aktivitas papain murni (U/mL)	Aktivitas papain immobil (U/mL)
50	0,8893	0,1117
60	0,5308	0,4004
70	0,3492	0,0465

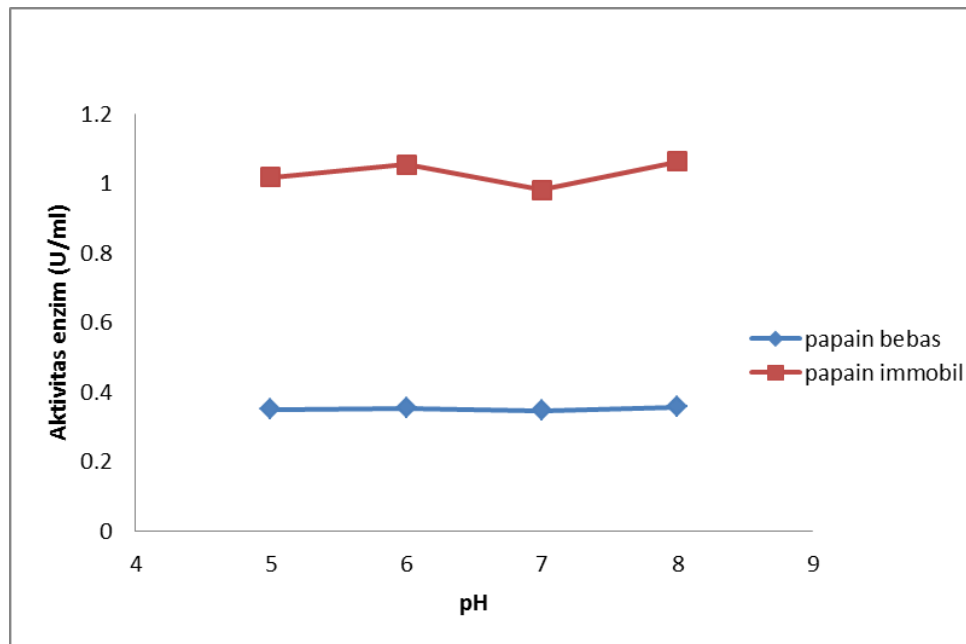
Tabel 3 *Reusability* pada enzim papain yang terimmobilisasi kitosan-Ca

Penggunaan ke-	Aktivitas papain murni (U/mL)
1	0,8287
2	0,4000
3	0,2071
4	0,1862

### 3.2 Pembahasan

#### a. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim

Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain dilakukan untuk mengetahui pH optimal yang terjadi pada papain murni dan papain yang telah terimmobilisasi matriks kitosan-C. Data pengaruh pH dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini:

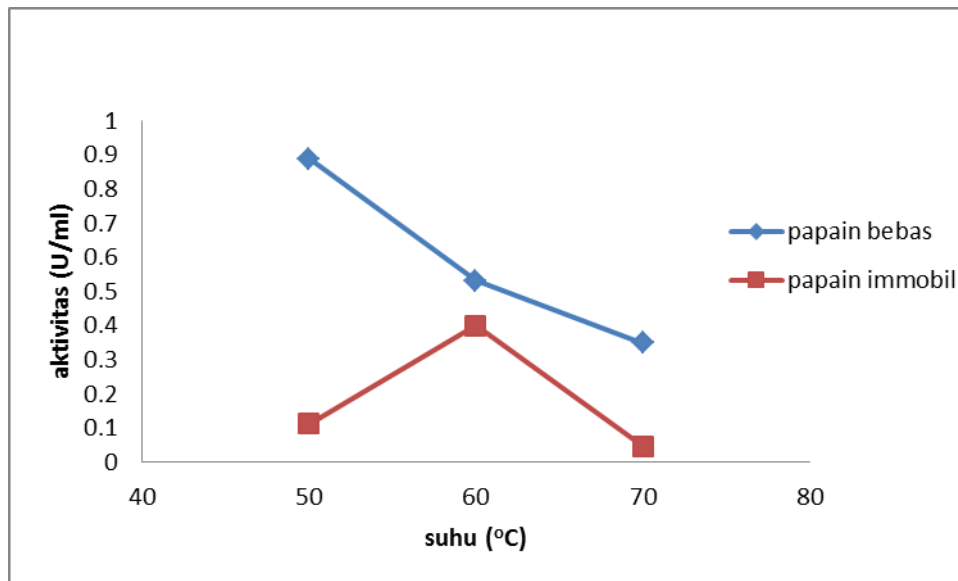


Gambar 1 Grafik pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain

Dalam penelitian ini, enzim papain yang telah melalui proses immobilisasi diuji kualitasnya dengan uji aktivitas enzim. Hasil dari uji aktivitas ini memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas enzim yang telah diimmobilisasi dengan matriks kitosan-Ca dengan enzim papain yang tidak melalui proses immobilisasi. Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa papain murni pada pH 5 sampai dengan pH 8 memiliki aktivitas yang stabil, tetapi nilai yang paling tinggi pada pH 8. Sedangkan pada papain immobilisasi menunjukkan pada pH 6 mengalami kenaikan namun pada pH 7 mengalami penurunan, kemudian pada pH 8 papain immobilisasi berada pada titik tertinggi. Hal ini, menunjukkan bahwa perubahan pH menyebabkan perubahan terhadap aktivitas enzim papain immobil, sedangkan pada papain murni dapat dilihat bahwa aktivitas papain murni tidak terlampau jauh. Adanya perubahan pH akan mempengaruhi konformasi gugus-gugus pada sisi aktif enzim dengan substratnya, sehingga diperlukan pH yang sesuai untuk mencapai kestabilannya. Dari Gambar 1 menunjukkan bahwa pH optimum untuk kerja enzim papain immobilisasi adalah pada pH 8. Sementara penelitian Afaq (2001) menunjukkan aktivitas enzim immobil dengan menggunakan sepharose pH optimum pada Ph 7,5.

#### **b. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim papain immobil**

Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim papain dilakukan untuk mengetahui suhu optimal yang terjadi pada papain murni dan papain yang telah terimmobilisasi matriks kitosan-C. Data pengaruh pH dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini:

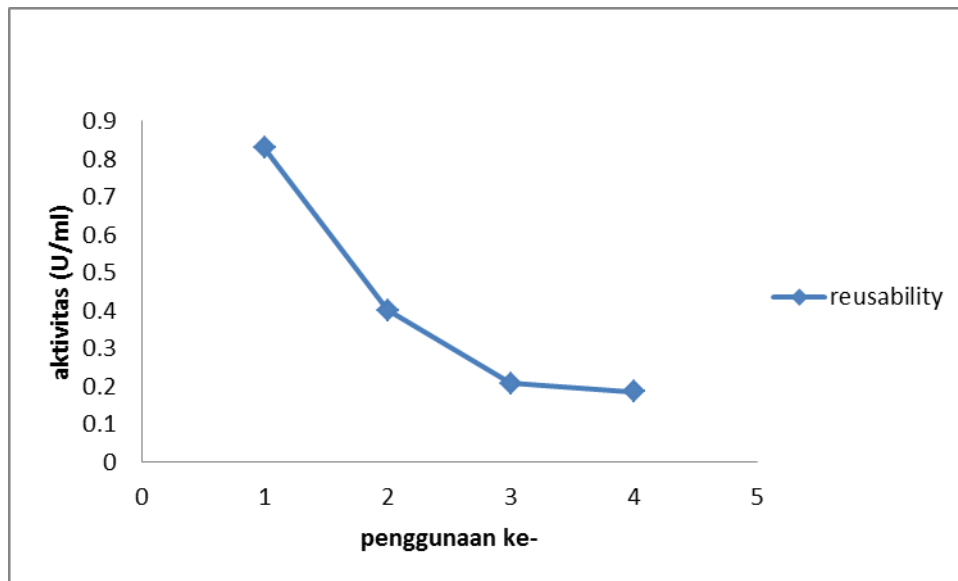


Gambar 2 Grafik hubungan antara suhu dan aktivitas enzim

Pada Gambar 2 dapat diketahui bahwa aktivitas enzim papain murni menurun seiring bertambahnya peningkatan suhu dari suhu 50°C. Aktivitas papain murni maksimum pada suhu 50°C. sehingga suhu maksimum papain murni adalah 50°C. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu enzim papain murni akan mengalami denaturasi, maka aktivitas enzim papain akan semakin menurun. Peningkatan suhu hingga suhu maksimum akan meningkatkan reaksi enzimatik, namun kenaikan suhu diatas suhu maksimum akan mengakibatkan penurunan laju reaksi enzimatik. Data pada Gambar 2 menunjukkan bahwa uji aktivitas enzim immobil memiliki suhu optimum 60°C, sementara papain murni memiliki suhu optimal 50°C. Hal ini menunjukkan bahwa matriks kitosan-ca mampu melindungi papain terimmobil dari panas, sehingga proses denaturasi terjadi lebih lambat, yang mengakibatkan papain terimmobil mampu bertahan dalam suhu yang tinggi. Hal ini dapat disimpulkan bahwa enzim papain yang telah terimmobil mampu bertahan pada suhu yang tinggi, sehingga dapat memberikan keuntungan dalam proses industri. Aktivitas papain immobil optimum pada suhu 60°C dibandingkan dengan penelitian sebelumnya (Afaq,2001) aktivitas papain immobil dengan sepharose memiliki suhu optimum pada suhu 75°C.

### c. Reusability

Enzim immobil dapat digunakan lebih dari satu kali dibandingkan dengan *free* enzim, aktivitas enzim dapat ditingkatkan karena enzim tidak terkontaminasi dengan produk dan produk yan dihasilkan tidak terkontaminasi oleh enzim. Papain immobil dapat digunakan berulang disajikan pada Gambar 3 di bawah ini:



Gambar 3 Grafik *reusability* enzim papain immobil

*Reusability* menunjukkan bahwa penggunaan papain immobil berulang akan menurunkan aktivitas enzim. Papain immobil dapat digunakan 2 kali. Dimana, pada kali ke tiga dan empat pemakaian, aktivitas enzim menurun hingga setengah dari pemakaian enzim kali ke dua. Aktivitas papain immobil dapat meningkat dengan penambahan papain immobil dalam maksimum penggunaan terakhir. Dalam penerapannya penggunaan papain murni kurang menguntungkan karena harga yang mahal dan hanya digunakan satu kali saja. Papain immobil memiliki beberapa keuntungan, seperti tidak larut, tahan terhadap panas, dapat digunakan secara kontinyu, mempercepat reaksi, mengontrol formasi produk dan memudahkan enzim untuk lepas dari produk. Pada penelitian terdahulu (Pamungkas, 2011) yang menggunakan larutan ammonia sulfat jenuh dimana pengulangan penggunaan enzim mampu mencapai 5 kali. Hal ini terjadi karena sifat bahan yang dijadikan matriks kitosan berbeda sehingga hasilnya juga berbeda.

#### 4. PENUTUP

##### Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. pH optimum pada papain terimobilisasi terjadi pada pH 8, sama halnya pada papain murni.
2. Suhu optimum papain terimobilisasi terjadi pada suhu 70°C, sedangkan pada papain murni terjadi pada suhu 50°C.
3. Penggunaan berulang papain terimobilisasi dapat digunakan sebanyak 2 kali, namun pada pemakaian waktu kedua telah mengalami penurunan.

## Saran

Untuk pengembangan yang lebih lanjut maka peneliti memberikan saran yang bermanfaat dan dapat membantu untuk penelitian yang akan datang, yaitu:

1. Penyimpanan bahan seperti enzim papain disarankan di tempat yang sejuk karena enzim papain jika ditempatkan pada suhu yang tinggi akan rusak.
2. Pada pembuatan reagen kimia harus dilakukan secara teliti dan hati-hati agar tidak terkontaminasi dengan udara sekitar ataupun dengan bahan yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afaq, S. (2001). Immobilization and Stabilization of Papain on Chelating Sepharose. *Electronic J. Biotechnology Catolica de Velparaaiso Chile*. 4 (3).
- Cahyaningrum, S. E., & Agustini, R. (2007). Pemakaian Kitosan Limbah Udang Windu sebagai Matriks Pendukung, 2(2), 93–98.
- Cahyaningrum, S. E., Santoso, S. J., & Agustini, R. (2008). Immobilization Of Papain On Chitosan. *Indo. J. Chem*, 8(3), 372–376.
- Devraj, K. M., Ramanjaneyulu, K., Narendar, K., Ravikanth, V., Saisupraja, B., Alankritharani, P., & Lakshmi, S. (2011). Evaluation of Papain Immobilization in Chitosan Nanoparticles Using Different Crosslinking Agents. *Journal of Pharmacy Research*, 4(8), 8–10.
- Dini, E., Alexandridou, S., & Kiparissides, C. (2003). Synthesis and Characterization of Cross-Linked Chitosan Microspheres for Drug Delivery Applications. *Journal Microencapsulation*, 20(3), 375–385.
- Kumari, S., & Kumar, P. (2014). Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Fish Scales. *Procedia Materials Science*, 6, 482–489.
- Kurniasih, M., & Kartika, D. (2011). Sintesis dan Karakteristik Fisika-Kimia Kitosan. *Jurnal Inovasi*, 5(1), 42–48.
- Lehninger AL., (1990). *Dasar-Dasar Biokimia*. terjemahan Maggy Thenawidjaya., Penerbit Erlangga, Jakarta
- Leila Mosafa , Majid Moghadam, M. S. (2013). Papain Enzyme Supported on Magnetic Nanoparticles : Preparation, Characterization and Application in the Fruit Juice Clarification. *Chinese Journal of Catalysis*, 34, 1897–1904.

- Murray, Robert K. Granner, Daryl K. Rodwell, & Victor W. (2009). *Biokimia*. alih bahasa, Brahm U. Pedit ; editor edisi bahasa Indonesia, Nanda Wulandari...[et al.]. Ed. 27. Jakarta: EGC
- Pamungkas.K. (2011). Kitosan Sebagai Matriks Pendukung Amobilisasi Papain. *Prosiding Tugas Akhir*.
- Poedjiadi, Anna & Supriyanti, Titin. (2009). Dasar-Dasar Biokimia. Jakarta: Universitas Indonesia (UI-Press)
- Rukmana, Rahmat.(1995). *Pepaya Budidaya dan Pasca Panen*. Penerbit Kanisius
- Sebayang, F. (2006). Immobilisasi Enzim Papain dari Getah Papaya. *Jurnal Komunikasi Penelitian*, 18(2), 34–38.
- Silva, D. F., Rosa, H., Flavia, A., Carvalho, A., & Oliva-neto, P. (2015). Immobilization of Papain on Chitin and Chitosan and Recycling of Soluble Enzyme for Deflocculation of *Saccharomyces Cerevisiae* from Bioethanol Distilleries. *Research Article*, 2015, 1–10.
- Sugita, Purwantiningsih., Wukirsari, Tuti., Sjahriza, Achmad dan Wahyono, Dwi., (2009). *Kitosan Sumber Biomaterial Masa Depan*. IPB Press